

審査の結果の要旨

氏名 木棚 究

本研究は、認知症の中で最も頻度が高いアルツハイマー病について、その発症の原因と
言われているアミロイドベータを分解するプロテアーゼをグリア系培養細胞の培養上清
から検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. アストロサイトーマ由来のグリア系培養細胞である U-87 及び CCF-STTG1 の培養
上清中にアミロイドベータ分解活性を認め、それはプロテアーゼ阻害剤カクテルで阻
害され、グリア系培養細胞の培養上清中にアミロイドベータを分解するプロテアーゼ
が存在することが示された。
2. グリア系培養細胞の培養上清を超速心したところ、アミロイド分解活性は、ppt 側
により多く認め、膜に親和性のある分泌型プロテアーゼであることが示された。また、
プロテアーゼ阻害剤を加えたところ、セリンプロテアーゼ阻害剤である DIFP (ジイ
ソプロピルフルオロリン酸) で強く阻害され、このグリア系培養細胞の培養上清中の
アミロイドベータ分解活性はセリンプロテアーゼであることが示された。
3. アミロイドベータ分解を行うとこれまでに報告されているセリンプロテアーゼとし
て、プラスミン、APH(Acyl peptide hydrolase)があり、それぞれに対する阻害剤で
はこのアミロイドベータ分解活性は阻害されず、既知のプロテアーゼで無いことが示
された。また、セリンプロテアーゼ阻害剤の中でも、TLCK はこの活性を阻害せず、
TPCK は阻害したことから、キモトリプシン型セリンプロテアーゼであることが示さ
れた。
4. キモトリプシン型セリンプロテアーゼでアルツハイマー病との関連が示唆されてい
る KLK7 及び KLK7 が属する KLK ファミリーに注目して、CCF-STTG1 細胞に
siRNA によるノックダウンを行い、その上清中のアミロイドベータ分解活性について
調べた結果、KLK9 の siRNA では分解活性は低下せず、KLK6、KLK7 では分解活
性が低下することを示した。また、KLK7 はより低濃度の siRNA で分解活性が低下
した。そして、このとき non target の siRNA では培養上清中に KLK 7 が存在し、
KLK7 の siRNA でそれがほぼ消失することを示した。
5. KLK6 及び KLK7 についてリコンビナント蛋白を用いてアミロイドベータ分解活性
を調べたところ、KLK6 では分解活性を認めなかった一方、KLK7 は濃度依存性にア
ミロイドベータ分解活性を示した。
6. KLK7 を阻害すると報告されている亜鉛イオンが CCF-STTG1 の培養上清中のアミ
ロイドベータ分解活性を阻害することを示した。この結果は、亜鉛イオンや銅イオン

をキレートし、アミロイド重合阻害作用をもつ PBT-2 の臨床試験の結果で認めた脳脊髄液中のアミロイドベータ減少を説明する一つの可能性として考えられた。

以上、本論文は、グリア系培養細胞の培養上清の検討から、その中に含まれる KLK7 がアミロイドベータ分解することを明らかにした。本研究は、アミロイドベータ分解を行う新しいプロテアーゼを発見しており、アルツハイマー病発症のメカニズム解明や治療に繋がりうる重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。